

WEST

Help

Logout

Main Menu

Search Form

Result Set

Show S Numbers

Edit S Numbers

First Hit

Previous Document

Next Document

Full

Title

Citation

Front

Review

Classification

Date

Reference

Claims

KMC

Document Number 14

PAT-NO: JP359039828A

DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 59039828 A

TITLE: PREPARATION OF ANTITUMOR ACTIVE SUBSTANCE

PUBN-DATE: March 5, 1984

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

SUZUKI, FUJIO

KATO, YUKIO

KAI, YUJI

TAKIGAWA, MASAHARU

SHIIO, TAKESHI

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

AJINOMOTO CO INC

COUNTRY

N/A

APPL-NO: JP57149750

APPL-DATE: August 28, 1982

INT-CL (IPC): A61K 35/32

ABSTRACT:

PURPOSE: To obtain the titled substance useful as an antitumor agent with little side effects, by extracting an animal cartilage with an aqueous solvent, precipitating the resultant extract with a hydrophilic organic solvent, and separating a fraction of a molecular weight within a specific range having a collagenase inhibitory activity.

CONSTITUTION: An animal cartilage, preferably a bovine fetal cartilage, is extracted with an aqueous solvent and then precipitated with a hydrophilic organic solvent, e.g. acetone, to separate a fraction having 20,000~300,000 molecular weight and a collagenase inhibitory activity by the separating method with a membrane and give the aimed antitumor active substance. The resultant antitumor active substance can be purified if desired by the conventional purifying means for proteins, e.g. dialytic method, freeze-dried and preserved. The resultant freeze-dried substance is a water-soluble light yellow powder having 6~7pH in an aqueous solution thereof. The substance has little side effects because the substance is derived from the living body, and made from the animal cartilage available in large amounts as a starting material. Therefore, the practicability as a carcinostatic agent can be expected.

COPYRIGHT: (C) 1984, JPO&Japio

Main Menu

Search Form

Result Set

Show S Numbers

Edit S Numbers

First Hit

Previous Document

Next Document

Full

Title

Citation

Front

Review

Classification

Date

Reference

Claims

KMC

Help

Logout

AN 1984:197777 CAPLUS

DN 100:197777

TI Preparation of an antitumor agent from cartilage

PA Ajinomoto Co., Inc., Japan

SO Jpn. Kokai Tokkyo Koho, 4 pp.

CODEN: JKXXAF

DT Patent

LA Japanese

FAN.CNT 1

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
------------	------	------	-----------------	------

PI JP 59039828	A2	19840305	JP 1982-149750	19820828 <--
----------------	----	----------	----------------	--------------

AB ***Cartilage*** from animals is ***extd*** with aq. solvents and the ***ext*** treated with a hydrophilic ***org*** .
solvent to give a ppt., an antitumor substance with a mol. wt. of 2-30 times. 104. The substance shows collagenase inhibiting activity and is a protein contg. 45.29% C, 7.24% H and 14.74% N. The protein from bovine fetus cartilage inhibites the growth of sarcoma-180 cells in female mice.

WEST

Help

Logout

Main Menu

Search Form

Result Set

Show S Numbers

Edit S Numbers

First Hit

Previous Document

Next Document

Full

Title

Citation

Front

Review

Classification

Date

Reference

Claims

KWIC

Document Number 42

DERWENT-ACC-NO: 1984-092354

DERWENT-WEEK: 198415

COPYRIGHT 1999 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Antitumour component - prepd. by extracting animal cartilage with aq. solvent and precipitating extract with hydrophilic organic solvent

PATENT-ASSIGNEE: AJINOMOTO KK[AJIN]

PRIORITY-DATA: 1982JP-0149750 (August 28, 1982)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 59039828 A	March 5, 1984	N/A	004	N/A

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DESCRIPTOR	APPL-NO	APPL-DATE
JP59039828A	N/A	1982JP-0149750	August 28, 1982

INT-CL (IPC): A61K 35/32

ABSTRACTED-PUB-NO: JP59039828A

BASIC-ABSTRACT: Component is produced by extracting animal cartilage with aq. solvent, and pptg. extract with hydrophilic organic solvent to separate out fraction of mol. wt. 20-300 thousands having collagenase-inhibiting action. Cartilage material is pref. foetus cartilage partic. cattle foetus cartilage. End substance is soluble in water, difficultly soluble in hydrophilic organic solvent and extn., from starting material may be carried out by dissolving in aq. soln. of salt such as guanidine salt at pH 5-7 and repptg. by adding hydrophilic organic solvent such as acetone or ethanol and fractionating out.

Substance may be administered orally or by injection.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

TITLE-TERMS:

ANTITUMOUR COMPONENT PREPARATION EXTRACT ANIMAL CARTILAGE AQUEOUS SOLVENT
PRECIPITATION EXTRACT HYDROPHILIC ORGANIC SOLVENT

DERWENT-CLASS: B04

CPI-CODES: B04-B04E; B12-G07;

CHEMICAL-CODES:

Chemical Indexing M1 *01*

Fragmentation Code

M423 M720 M903 N161 N511 P616 P633 V600 V642 V814

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: C1984-039469

Main Menu

Search Form

Result Set

Show S Numbers

Edit S Numbers

First Hit

Previous Document

Next Document

AN 1970:117754 CAPLUS
DN 72:117754
TI Sulfated polysaccharide
IN Furuhashi, Tamotsu
PA Seikagaku Kogyo Co., Ltd.
SO Japan., 2 pp.
CODEN: JAXXAD
DT Patent
LA Japanese
FAN.CNT 1

PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
------------	------	------	-----------------	------

PI JP 45001444	B4	19700119	JP	19640807 <--
----------------	----	----------	----	--------------

AB Manuf. of a polymer (I) contg. galactose, acetylglucosamine, and H₂SO₄ in 1:1:1-2 molar ratio is described. In an example, 10 parts

cartilage of whale is ***extd*** . with proteinase, NaOAc and EtOH added to the ext., the mixt. filtered, 95% ***alc*** . added to the filtrate to make the ***alc*** . concn. to 80%, the mixt. kept in a refrigerator overnight, the ppt. washed with EtOH, Me₂CO, and Et₂O, and dried in vacuo to give 0.05 part I.

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—39828

⑤ Int. Cl.³
A 61 K 35/32

識別記号
ADU

庁内整理番号
7138—4C

⑬ 公開 昭和59年(1984)3月5日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑭ 抗腫瘍活性物質の製造方法

① 特 願 昭57—149750

② 出 願 昭57(1982)8月28日

⑦ 発 明 者 鈴木不二男
豊中市桜塚2—13—11

⑦ 発 明 者 加藤幸夫
枚方市禁野本町2—11—2752

⑦ 発 明 者 開祐司

八尾市八尾木22—1

⑦ 発 明 者 滝川正春
大阪市阿倍野区晴明通9—7

⑦ 発 明 者 椎尾剛
鎌倉市山崎1495—5

① 出 願 人 味の素株式会社
東京都中央区京橋1丁目5番8号

明 細 書

1. 発 明 の 名 称 抗腫瘍活性物質の製造方法

2. 特許請求の範囲

動物軟骨より、水性溶媒で抽出した後、親水性有機溶媒で沈澱せしめ、コラーゲナーゼ阻害活性を有する分子量2～30万の画分を分離することを特徴とする抗腫瘍活性物質の製造方法。

3. 発 明 の 詳 細 な 説 明

本発明は抗腫瘍活性物質の新規製造方法に関する。

本発明者は、軟骨組織よりの粗抽出物はそのままでは抗腫瘍活性を示さないが、水性溶媒で抽出した後、親水性有機溶媒で沈澱せしめコラーゲナーゼ阻害活性を有する分子量2～30万の画分を分離したところこれが抗腫瘍活性を示すことを見出し、この発見に基づいて本発明を完成するに至った。すなわち、この物質は、上記粗抽出物よりソマトニン様成長因子CDF (Cartilage-Derived Factor) を分離した残

渣より抽出精製されたものである。

本発明の出発物質として使用する動物軟骨は多量に入手できるという点で胎児軟骨、特に牛胎児軟骨が好ましい。

本発明の目的物質は水に可溶、親水性有機溶媒に難溶であるが、出発物質より抽出するには、グアニジン等塩水溶液でpH5～7程度の塩溶液に溶解し、これにアセトン、エタノール等の親水性有機溶媒を加えて再沈せしめ分取すればよい。

分子量2～30万の画分を分離するには例えば膜分画法を採用すればよい。

コラーゲナーゼ阻害活性の測定は常法の測定手段を利用すればよい。

なお、コラーゲナーゼ阻害活性成分と抗腫瘍活性成分が同一かどうか確認できていないが、上記処理手段により得られ、かつコラーゲナーゼ阻害活性を有する画分、例えば後述試料Dが抗腫瘍活性を有するものとして本発明の目的物質となる。

さらに具体的には例えば、牛胎児軟骨をスライスし水性溶媒例えば塩水溶液中でホモジナイズし、アセトン分画(45~65%程度沈澱)し、得られた沈澱を上記塩水溶液中に再溶解し、膜分画(分子量2~30万)により分離すればよい。所望により透析等常法の蛋白精製手段により精製し凍結乾燥し保存することができる。

このようにして得られた凍結乾燥品は淡黄色の粉末で、水に可溶である。水溶液のpH値は6~7である。

本発明で得られた物質を制癌剤として使用する場合には、そのままあるいは適当な担体とともに経口投与するか、生理食塩水に溶解して注射投与することが考えられる。

本発明品は、生体由来であるため副作用が少なく、大量に入手可能な動物軟骨を出発原料としているので、必要によりさらに精製して制癌剤としての実用性が期待される。

以下、実施例により本発明を詳細に説明する。

製分子量30万カット限外濾過膜「XM-300」を通し、限外濾過液を得た。さらに、2.0 kg/cm²加圧下、東洋濾紙社製分子量2万カット限外濾過膜「UP20」を通して内液(分子量30万~2万画分)(試料B)限外濾過液(試料C)を得た。試料Bを同様透析し、凍結乾燥し26.6mgの試料B乾燥品を得た。

ICR雌マウス(5週令)の皮下にザルコーマ-180腫瘍細胞を移植し、担癌とした後、試料AおよびB乾燥品をそれぞれ2mgを生理食塩水に溶解したものおよび対照群として生理食塩水のみを2回皮下投与し、腫瘍移植後5週間目の腫瘍の短、長径より腫瘍体積を測定し次の式により腫瘍阻止率(I.R.)を求め、結果を表1に示した。

$$I.R. = \frac{[\text{対照群の腫瘍体積}] - [\text{試料投与群の腫瘍体積}]}{[\text{対照群の腫瘍体積}]} \times 100\%$$

表1に示すように試料Aは抗腫瘍活性を示さなかったのに対して、これより精製した試料Bは抗腫瘍活性を示した。

実施例1

牛胎児軟骨200gをスライスし、1Mグアニジン塩酸-0.1M6-アミノ-n-カプロン酸(pH6.0)2ℓ中でポリトロンによりホモゲナイズした。4℃下48時間攪拌の後、8000rpm, 20分(4℃)遠心し得られた上清にアセトンを45%(終濃度)添加し、0℃下20分放置した。

次いで、8000rpm, 20分(4℃)遠心し得られた上清にさらにアセトンを加え終濃度65%とし再び0℃下20分放置後8000rpm, 20分(4℃)遠心した。得られた沈澱を50mlの蒸留水に溶解し、蒸留水に対して、4℃下48時間透析を行い、凍結乾燥の後4gのアセトン画分(試料A)を得た。

試料A3gを4Mグアニジン塩酸、0.01Mエチレンジアミン四酢酸(EDTA)、0.1M6-アミノ-n-カプロン酸(pH6.5)200mlに溶解し、8000rpm20分(4℃)遠心し、得られた上清を、1.0 kg/cm²加圧下、フミコン社

一方、試料BおよびCについてソマトメジン活性(Y.Kato,Y.Nomura,M.Tsuji,H.Ohmae,M.Kinoshita,S.Hamamoto and F.Suzuki "Cartilage-Derived Factor (CDF) II

Somatomedin-Like Action on Cultured chondrocytes" Exp. Cell Res. vol.132 P339-347(1981))

を測定したところ、試料Cにのみ活性が認められた。

表 1

試料	n	I. R.
A	7	- 2.5 %
B	7	56.0 % ^{※1}

※1 腫瘍体積において対照群(n=7)に対してP<0.01

実施例 2

牛胎児軟骨 150g 1M グアニジン塩酸 0.1M
6-7 ミノ- α -n-カプロン酸 (pH 6.0) 1.5ℓ
中でミキサーによりホモゲナイズした。4℃ 48
時間攪拌の後 8000rpm, 20分 (4℃) 遠
心し得られた上清にアセトンを終濃度 45% 添加
し、0℃ 下 20分 放置した。次いで 8000rpm
20分 (4℃) 遠心し得られた上清にさらにア
セトンを加え、終濃度 65% とし 0℃ 下 20分 放
置した。8000rpm 20分 (4℃) 遠心後、
得られた沈殿を 50ml の蒸留水に溶解し蒸留水に
対して 4℃ 下 48時間透析の後凍結乾燥した。
これを 2000ml の 4M グアニジン塩酸、0.01M
EDTA、0.1M 6-7 ミノ- α -n-カプロン酸 (pH
6.5) に溶解し、1.0 kg/cm² 加圧下、限外濾過膜
「XM-300」に通し、得られた限外濾過液を
1.5 kg/cm² 加圧下、限外濾過膜「UP20」に
通し、内液を採取し同様蒸留水に対して透析の後
凍結乾燥し、172mg の粉末 (試料 D) を得た。
蛋白を重量比で 64.5% (フォリン法) 含有する。

次に試料 D についてコラーゲナーゼ阻害活性を
測定した。結果を表 3 に示した。

表 3

試料 D の使用量 (μ g/ml)	コラーゲナーゼ活性阻害率 (%)
90	61.6
900	82.6
無添加 (対照)	0

なお、上記活性の測定に用いたコラーゲナーゼ
は家兔皮膚を無血清培地にて器官培養して得られ
た培養上清をトリプシン処理により活性化したもの
である。コラーゲナーゼ活性は ¹⁴C-グリシン
標識コラーゲンよりの ¹⁴C 放射能の 2.5 mM トリ
ス塩酸、2.5 mM 塩化カルシウム中における遊離
により測定した。

4. 図面の簡単な説明

オ 1 図は、実施例 2 で得られた試料 D の赤外
線吸収スペクトル図である。

特許出願人 味の素株式会社

元素分析値: C 45.29%, H 7.24%, N 14.74%

赤外吸収スペクトル (KBr 希釈による拡散反

射法: オ 1 図

ICR 雌マウス (5週令) の皮下にザルコーマ
-180 腫瘍細胞を移植し、担癌とした後、試料
D 2mg を生理食塩水に溶解したものおよび対照群
として、生理食塩水のみを 4 回皮下投与し、腫瘍
移植後 5 週間の腫瘍体積を測定し腫瘍阻止率を
求め、結果を表 2 に示した。

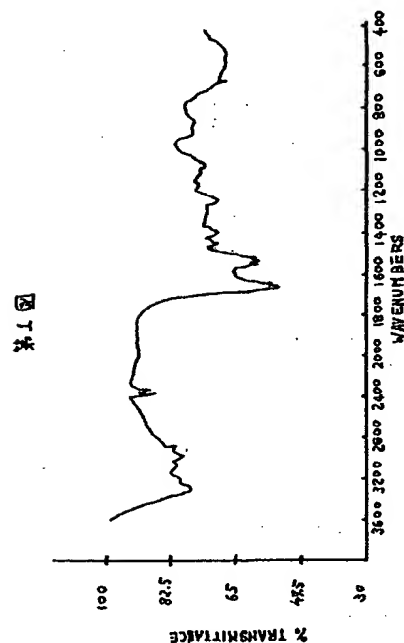
表 2

試料	n	I. R.	完全退縮
D	7	77% ※2	3/7

※2: 腫瘍体積において対照群 (n=7) に

対して $P < 0.01$

表 2 より試料 D は著しい抗腫瘍活性を示し、そ
の結果、7 匹中 3 匹は腫瘍が完全に退縮している
ことが理解される。



特開59-39828(4)

一方、試料BおよびCについて、 ^{14}C の取り込みを測定した。

性 (Y. Kato, Y. Nomura, M. Tsuji, H. Ohmura, M. Kinoshita, S. Hamamoto and F. Suzuki "Cartilage-Derived Factor (CDF) B

Somato medin-Like Action on Cultured chondrocytes" Exp. Cell Res. vol. 132 P339-347 (1981))

を測定したところ、試料Cにのみ活性が認められた。

表 1

試料	n	I. R.
A	7	- 2.5 %
B	7	56.0 % ※1

※1 腫瘍体積において対照群 (n = 7) に

対して $P < 0.01$



住所 東京都中央区京橋一丁目5番8号

名称 (006) 味の素株式会社

代表者 取締役社長 吹川 勝弘

4. 補正命令の日付 昭和57年11月12日

(発送日 昭和57年11月30日)

5. 補正により増加する発明の数 なし

6. 補正の対象 明細書の発明の詳細な説明の欄

7. 補正の内容 別紙の通り (昭和57年6月、7月、8月、9月)

元素分析値: C 45.29 %, H 7.24 %, N 14.74 %

赤外線吸収スペクトル (KBr 希釈による拡散反射法: 水1図

1 C R 確率 (5 適合) の皮下にサラン

- 180 腫瘍細胞を移植し、担瘤とした後、試料

D 2 mg を生理食塩水に溶解したものおよび対照群

として、生理食塩水のみを4回皮下投与し、腫瘍

移植後5週間目の腫瘍体積を測定し腫瘍阻止率を

求め、結果を表2に示した。

表 2

試料	n	I. R.	完全退縮
D	7	77 % ※2	3/7

※2: 腫瘍体積において対照群 (n = 7) に

対して $P < 0.01$

表2より試料Dは著しい抗腫瘍活性を示し、そ

の結果、7匹中3匹は腫瘍が完全に退縮している

ことが理解される。

4. 図面の簡単な説明

水1図は、実施例2で得られた試料Dの赤外

線吸収スペクトル図である。

特許出願人 味の素株式会社